盐角草内生真菌分离鉴定及抑制水产腐败细菌菌株的筛选

张艳秋[2,3]，方怀义[3]，曹宏明[1]，龚斌[1,2*]，邓宗剑[2]，陈美花[4]，宋静静[3]，张虹[2]

（1.广西北部湾海洋灾害研究重点实验室，广西 钦州 535011； 2. 北部湾大学 海洋学院，广西 钦州 535011； 3. 广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室，广西 钦州 535011； 4. 北部湾大学 食品科学与工程学院，广西 钦州 535011）

摘要：盐角草是一种耐盐植物，有重要的食药用价值。为研究盐角草的内生真菌及其活性次生代谢产物的多样性，该文对采集于广西北部湾沿海盐角草的内生真菌进行分离纯化，采用 RAPD 对内生真菌多样性进行分析，并用 ITS 基因序列对内生真菌进行鉴定，最后对内生真菌提取物抑制几种水产腐败细菌的活性进行筛选。结果表明：（1）从北部湾盐角草植物中分离到 14 株形态不同的内生真菌，RAPD 分析这些内生真菌有 6 种不同型别，ITS 基因序列分析表明，这些菌株分别和 *Curvularia lunata*、*Aspergillus candidus*、*Guignardia mangiferae*、*Neocamarosporium chichastianum* 有较高的序列相似性；其中有三株与 *Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M：30126 的相似性为 94%~95%，从系统发育树和菌落形态上看可能为 *Neocamarosporium salicornicola* 进化关系较近的一个新种。（2）抑菌实验表明，内生菌 YJCJ3

[1]收稿日期：2020-02-15

基金项目：国家自然科学基金项目(31560727)；广西自然科学基金项目(2018JJA130187)；广西高校中青年教师基础能力提升项目(2017KY0778)；广西教育厅高校科研项目(KY2015ZD132)；广西北部湾海岸科学与工程实验室项目(2016ZYB04)；广西北部湾海洋灾害研究重点实验室项目(2017ZD01) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31560727)； Guangxi Natural Science Foundation (2018JJA130187)； Basic ability improvement project for young and middle-aged teachers in Universities of Guangxi (2017KY0778)； Scientific Research Foundation of Guangxi Educational Committee(KY2015ZD132)；Foundation of Guangxi Beibu Gulf Coastal Science and Engineering Laboratory (2016ZYB04)； Foundation of Guangxi Key Laboratory of Marine Disaster (2017ZD01)] 。

作者简介：张艳秋（1979-），女，内蒙古赤峰人，博士，副教授，研究方向为海洋生物资源开发与利用，(E-mail)cfzyq101@126.com。

***通信作者**：龚斌，博士，教授，研究方向为海洋微生物，(E-mail)342965691@qq.com。

提取物具有比较好的抑制副溶血弧菌的活性，其菌丝体提取物的甲醇、石油醚和乙酸乙酯的溶解液都具有较强的抑制副溶血弧菌的活性；而 YJCJ5 表现了较为广谱的抑制几种水产腐败细菌诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)、乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)的活性，其中 YJCJ5 的菌丝体石油醚和乙酸乙酯溶解液表现抑制 *B. noackiae* 和 *Aeromonas dhakensis* 的活性，而甲醇和石油醚的溶解液具有一定的抑制 *Buttiauxella gaviniae* 的活性。该研究的结果表明盐角草存在较为丰富的内生真菌多样性，可以发现一些新的内生真菌种群，其具有多种活性提取物，可用于抑制水产品的腐败细菌的生长，具有较好的开发价值。

关键词：盐角草，内生真菌，水产腐败细菌，抑菌活性，北部湾

中图分类号：S917.1　　　文献表示码：A

The endophytic fungi isolated from *Salicornia europaea* and their antibacteria activities to aquatic spoilage Bacteria

ZHANG Yanqiu[2,3], FANG Huaiyi[3], CAO Hongming[1], GONG Bin[1,2*], DENG Zhongjian[1], CHEN Meihua[4], SONG Jingjing[3], ZHANG Hong[2]

(1. *Guangxi Key Laboratory of Marine Disaster in the Beibu Gulf*, 535011, Guangxi，China; 2. *School of Ocean Sciences, Beibu Gulf University*，535011, Guangxi，China; 3. *Guangxi Key Laboratory Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation*，535011, Guangxi，China；　4. *School of food science and engineering, Beibu Gulf University*, 535011, Guangxi，China)

Abstract:*Salicornia europaea* is a kind of salt tolerant plant with important edible and medicinal value. Because this coastal plant grow in extreme salt tolerant environment, the diversity of its endophytic fungi and their active secondary metabolites may be distinctive from other plants. In our study, the endophytic fungi were isolated and purified, and the diversity of endophytic fungi was analyzed by RAPD, then the endophytic fungi were identified by ITS gene analysis. Finally, their activity inhibiting several aquatic spoilage bacteria was screened. The results showed that 14 endophytic fungi with different morphological characteristics were isolated from *Salicornia europaea* L. in Beibu Gulf. According to the RAPD analysis, these endophytic fungi have 6 different genetic types. The sequence analysis of ITS gene showed that these fungi have high sequence similarity with *Curvularia lunata*, *Aspergillus candidus*, *Guarantaria mangiferae* and *Neocamarosporium chichastianum*, and three of which showed

relatively lower similarity with *Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M:30126, which indicated 94% - 95%. From the phylogenetic tree and colony morphology, three endophytic fungi, named YJCY2、YJCY3 and YJCG2, may be a new species closely related to *Neocamarosporium salicornicola*. The antibacterial experiment showed that the extract content of strain YJCJ3 showed a strong antibacterial activity to *Vibrio parahaemolyticus*, and the methanol、petroleum ether and ethyl acetate solution of the mycelium extract had a strong inhibiting activity against *Vibrio parahaemolyticus.* YJCJ5 showed a broad spectrum to inhibit several aquatic spoilage bacteria *Buttiauxella noackiae*、*Aeromonas dhakensis* and *Buttiauxella gaviniae*, in which the petroleum ether and ethyl acetate solution of mycelium inhibited the growth of *B.noackiae* and *A.dhakensis*, while the extract content of methanol and petroleum ether solution inhibited the activities of *B.gaviniae*. Our result is significant, for that the diversity of endophytic fungi in *Salicornia europaea* L. was extremely abundant. Many new endophytic fungi could be isolated and identified from this plant. A variety of active extracts can be screened and used to inhibit the growth of spoilage bacteria in aquatic products. and showed good potential for their utilization in this area.

Key words: *Salicornia europaea* ，endophytic fungi，aquatic spoilage bacteria，antibacterial activity，Beibu Gulf

盐角草（*Salicornia europaea*），别名海芦笋，属于藜科盐角草属植物，生于盐湖、盐碱地、海岸边等盐度比较高的生境(Shi et al., 2006)，是目前认识的最耐盐的植物之一(赵惠明, 2004)，其分布于世界很多地方。盐角草是一种药食两用植物，一方面，其可作为蔬菜食用，且蛋白、脂肪和氨基酸等营养成分丰富(李建伟等，2012)；另一方面，盐角草也具有较好的药用价值，盐角草全草在中药里称为海蓬子，《中华本草》中记载其可以治疗高血压和头痛(国家中药管理局, 1999)。姜丹发现盐角草甲醇提取物中芦丁对中肋骨条藻的生长具有一定的抑制作用(姜丹等，2012)；许伟从盐角草中提取总生物碱，发现其具有抑菌活性(许伟等，2011)；张丹玉发现盐生植物北美海蓬子的提取物具有抗肿瘤活性(张丹玉等，2014)；管福琴发现海蓬子的三萜皂苷具有抗乳腺癌的活性(管福琴等，2016)。

内生真菌是在健康植物中共生的一类真菌，很多内生真菌都能够产生结构多样的活性化合物(Schulz et al., 2002; Jia et al., 2016)。目前关于盐角草内生菌的研究还比较少，赵育卉等从盐角草中分离了两株内生真菌，分别为点青霉属和镰刀菌属(赵育卉等，2013)；冉火苗从野生盐角草中分离了 13 株内生细菌，利用 8 种病原细菌作为指示菌对内生细菌进行研究，发现有两株菌对这些病原菌有较好的抑制作用(冉火苗等，2016)；赵帅等利用高通量测序的方法研究了盐角草根部内生细菌多样性，揭示内生细菌在宿主关键发育期变化规律(赵帅等，

2016)；张志东利用高通量测序的方法研究了新疆地区盐湖生长的盐角草内生真菌的多样性(张志东等，2020)。

广西北部湾海岸线 1 629 km，属于亚热带季风气候，常年高温多雨，孕育了丰富的海洋生物多样性(Wu et al., 2017)。广西北部湾盐角草对比其他区域而言，其内生真菌多样性如何？是否存在一些独特的种群？另外，对于这种生活在极端环境中的植物，其内生真菌的活性次生代谢产物多样性如何？本研究从钦州沿海的盐角草中分离内生真菌，采用 RAPD 方法对内生真菌进行多样性研究，并利用 ITS 基因序列对内生真菌进行鉴定，并评价了这些内生真菌的抑制几种水产腐败细菌的活性，本研究对于北部湾耐盐植物内生菌资源的开发具有较重要意义。

1. 材料与方法

1.1 盐角草的采集

盐角草全草采集自北部湾钦州沿海月亮湾附近盐田，植物经过专家鉴定后为盐角草（*Salicornia europaea*）。采集的盐角草放入冰盒后迅速转移到实验室进行下一步研究。

1.2 实验培养基

内生真菌的分离培养基为 SPDA 培养基，是在普通的 PDA 培养基(Gong et al., 2017)添加 1.5%的海水晶；指示菌培养基为普通 LB 培养基（胰化蛋白胨 10 g，酵母粉 5 g，氯化钠 10 g，调 pH 至 7.4 左右，用纯净水定容至 1 L）。

1.3 盐角草内生真菌的分离纯化

自来水冲洗盐角草样品，按文献操作进行样品表面消毒(Gong et al., 2017)，用无菌水洗净后在超净操作台中晾干。无菌条件下将盐角草根、茎和叶剪成 0.5 cm 的小段，置于 SPDA 培养基（添加 50 μg • mL^{-1} 氯霉素）中。倒置，26~28 ℃培养，每天观察，挑取长出的菌丝，在新的 SPDA 平板上生长，待菌落长出来后，挑取少量边缘的菌丝重复本操作 2 次对真菌进行纯化。

1.4 内生真菌的分子鉴定

收集液体培养的内生真菌菌丝体，采用液氮反复冻融3次，利用真菌 DNA 提取试剂盒(美国，Omega) 提取真菌的总DNA(龚斌等，2017)。合成S系列随机引物，对引物进行筛选，选择稳定、重复性好的引物进行下一步实验，实验的具体步骤参考文献(龚斌等，2017)。内生真菌的ITS基因分析鉴定参考文献进行(Gong et al., 2014)，采用SPDA液体培养基培养5 mL真菌，10 000 r • min^{-1}离心5 min收集菌丝体，用液氮冻融菌丝体3次，用灭菌玻璃棒迅速将

菌丝体研磨成匀浆，按照操作说明书采用真菌基因组DNA提取试剂盒（Solarbio公司）提取真菌染色体DNA，提取的DNA用NanoDrop 2000进行DNA的质量检测和定量，吸取一定量DNA，使用通用引物ITS1和ITS4扩增(Gong et al., 2015)真菌ITS基因片段，扩出的片段经过PCR产物回收试剂盒回收后，送金唯智生物有限公司测序。

1.5 真菌次生代谢产物的提取和抑菌活性测定

接种真菌于 200 mL 液体 SPDA 培养基，200 r • min^{-1} 转速，26~28 ℃，发酵培养 10~20 d 至菌丝体长满三角瓶。8 000 r • min^{-1} 离心收集菌丝体，常温下风扇吹干水分。干燥后的菌体称取 0.3 g 加入 5 mL 提取液（乙酸乙酯：甲醇：乙酸=80:15:5）浸泡，然后将提取液均匀吸入 3 个 EP 管，静置让提取液挥发，然后在 EP 管中分别加入有机溶剂石油醚、乙酸乙酯和甲醇来溶解提取物。抑菌活性指示菌诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)、乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)、副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)分别来自腐败的鱼肉和其他水产品，由本实验室分离保藏。分别接种到 LB 液体培养基中，28 ℃摇床上以 200 r • min^{-1} 的转速培养过夜。将上述菌液 200 μL 采用混菌法接种于培养皿中，采用滤纸片法测定抑菌活性(Gong et al., 2018)。本实验使用滤纸片分别蘸取乙酸乙酯、甲醇和乙酸作为空白对照，阳性对照为滤纸片蘸取 50 μg • mL^{-1} 的卡那霉素和氯霉素。

2 结果与分析

2.1 盐角草内生真菌的分离结果

本研究从广西北部湾钦州沿海盐田边生长的盐角草的根、茎、叶中共分离纯化得到 48 株内生真菌，其中茎中得到真菌 22 株（相同菌落形态的真菌合并为一种后有 5 株，命名为 YJCJ1、YJCJ2、YJCJ3、YJCJ4 和 YJCG5），根中得到 12 株（相同菌落形态的真菌合并为一种后有 6 株，命名为 YJCG1、YJCG2、YJCG3、YJCG4、YJCG5 和 YJCG6），叶中得到 14 株（相同菌落形态的真菌合并为一种后有 3 株，命名为 YJCY1、YJCY2 和 YJCY3）（表 1）。从表 1 可知，从茎中分离的真菌是最多的，但是根中得到的真菌更为丰富。

表 1 盐角草内生真菌的分离

Table 1 The isolation of endophytic fungi from the *Salicornia europaea*

取样部位 Sampling tissue	菌落编号 Colony No.	菌株数（株） Number of fungi	占总菌株数百分比 Percentage of total fungi (%)

叶 Leaves	YJCY1-3	3	21.43%
茎 Stems	YJCJ1-5	5	35.71%
根 Roots	YJCG1-6	6	42.86%

2.2 RAPD 分析内生真菌多样性

对 14 种菌落形态有差异的内生真菌，进一步提取总 DNA 后，进行 RAPD 多样性分析（图 1），通过指纹条带分析，确定有 6 种不同的遗传类型，其中 YJCY1、YJCJ1、YJCJ3、YJCJ4、YJCJ5、YJCG1、YJCG3、YJCG4、YJCG6 相同，YJCJ2 和 YJCG5 分别为独立类型，YJCG2、YJCY2 和 YJCY3 相似但不完全相同。

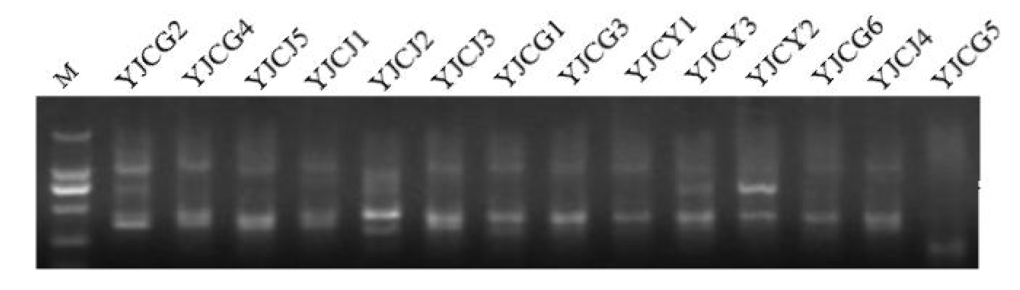


图 1. 盐角草内生真菌 RAPD 多样性分析

Fig. 1 RAPD analysis on the diversity of endophytic fungi from *Salicornia europaea*

2.3 内生真菌的 ITS 分子鉴定

通过对 14 株真菌 ITS 序列的分析，从核酸序列数据库中找到与本研究序列相似度最高的菌株(图 2)，结果表明有 9 株与 *Curvularia lunata* PSU-ES195 的相似性最高，为 99%-100%；YJCJ2 与 *Aspergillus candidus* ATCC 1002 的相似性为 99%；YJCG5 与 *Guignardia mangiferae* GZAAS6.1243 的相似性为 99%。ITS 基因序列与 RAPD 多态性分型的分析方法得到的结果非常接近，说明 RAPD 在对分离的内生真菌进行类群初步划分也是非常有效的，可以节省分型的成本。

GenBank 中与 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 相似性最高的菌株为 *Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M:30126（94%~95%），相似性比较低。为了进一步确定其分类地位，我们构建了 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 及 GenBank 中 ITS 基因序列相似性最高的菌株的系统发育树，结果表明 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 与 *Neocamarosporium salicornicola* 在进化树中为一个分支。Blastn 分析与进化树的结果有一定差异，这可能是因为相似性和进化树的分析计算方法不同，相似性计算时只考虑比对的序列碱基中相同的碱基所占的百分比，而进化

树是按 Neighbour-Joining 的方法对序列进行两两比较，从而计算序列中间的进化或亲缘关系，两者在概念上存在一定的差异。另外 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 是否为新种有待进一步确定。

表 2 内生真菌的 ITS 分子鉴定结果

Table 2 Blastn analysis of ITS gene of endophytic fungi in *Salicornia europaea*

菌株编号 Sample No.	GenBank 中相似性最高的真菌 The name of the most related Fungi by Blastn analysis	GenBank 号 GenBank Number	相似性 Similarity
YJCJ2	*Guignardia mangiferae* strain GZAAS6.1243	KF920707.1	99%
YJCY2	*Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M:30126	KP004455.1	95%
YJCY3	*Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M:30126	KP004455.1	94%
YJCG2	*Neocamarosporium chichastianum* IBRC-M:30126	KP004455.1	94%
YJCG5	*Aspergillus candidus* ATCC 1002	NR_077149	99%
YJCY1	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	99%
YJCJ1	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	99%
YJCJ3	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	99%
YJCJ4	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	100%
YJCJ5	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	99%
YJCG1	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	100%
YJCG3	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	100%
YJCG4	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	100%
YJCG6	*Curvularia lunata* PSU-ES195	JN116704.1	100%

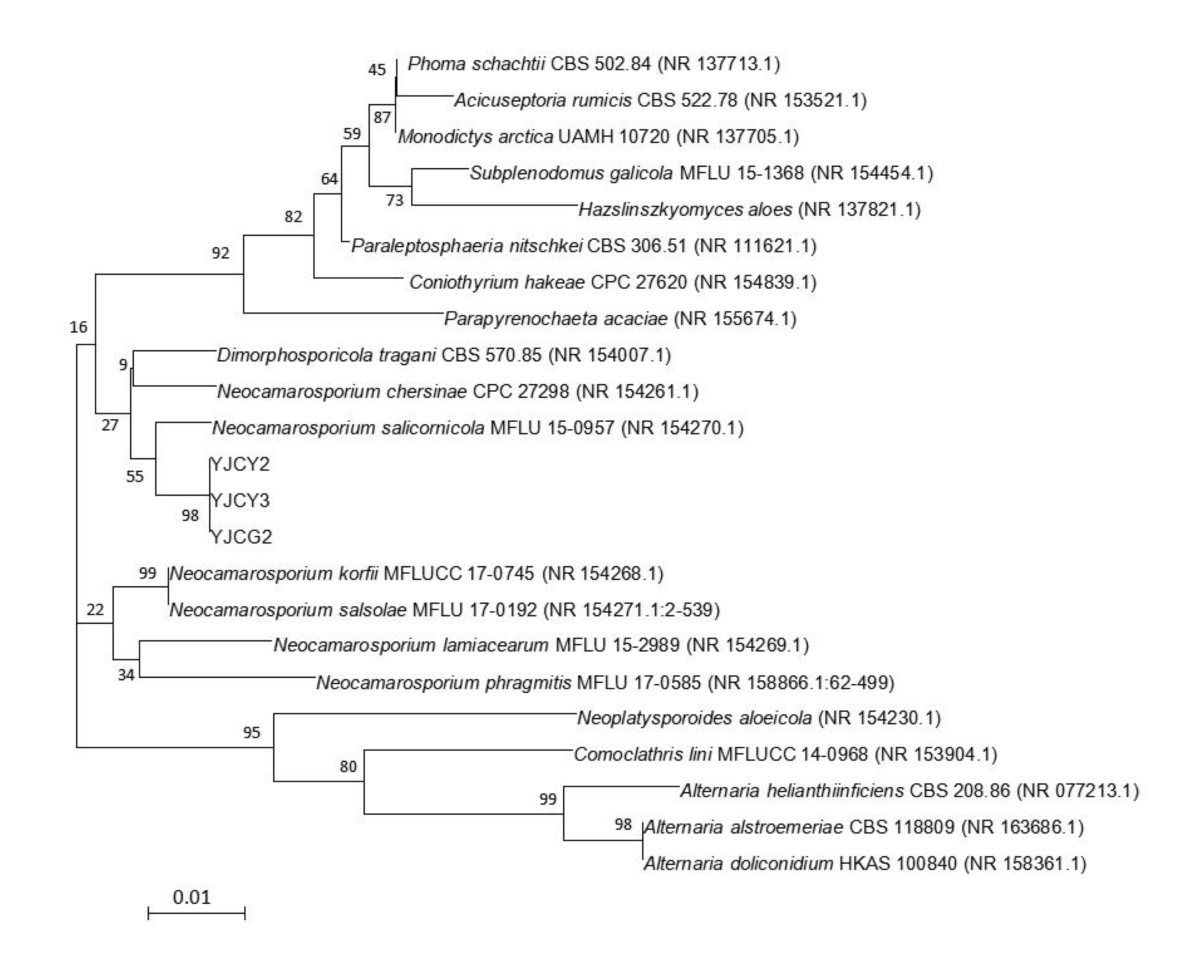


图 2 三种盐角草内生真菌 ITS 基因构建的进化树

Fig. 2 The Phylogenetic tree of ITS gene of three endophytic fungi in *Salicornia europaea*

2.4 盐角草内生真菌提取物抑菌活性的测定

将所得的代谢产物和菌体浸出物用不同的有机溶剂甲醇、石油醚和乙酸乙酯提取做抑菌实验，用提取液对 4 种指示菌 *Buttiauxella gaviniae*、*Aeromonas dhakensis*、*Buttiauxella noackiae*、*Vibrio parahaemolyticus* 进行抗菌活性试验，结果表明 14 株内生真菌中，有 4 株内生真菌对一种或者多种指示菌具有抑菌活性（表 3）， 其中 YJCJ1 对诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)，乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)有抑菌活性，对副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)无抑菌活性；YJCJ5 对诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)，乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)有抑菌活性，且在石油醚中抑菌效果比较强，对副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)无抑菌活性；YJCJ3 在三种溶剂中对副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)都有很强的抑菌活性，在诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)，乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)中无抑菌效果；YJCG5 对诺氏布丘氏菌（*Buttiauxella noackiae*）、

乡间布丘氏菌(*Buttiauxella gaviniae*)有抑菌效果，对气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)、副溶血弧菌(*Vibrio Parahaemolyticus*)无抑菌效果。

表 3　真菌粗提物对指示菌的抑菌作用

Table 3　Inhibitory effect of crude extract of fungi on the bacteria

菌种编号 Fungi No.	诺氏布丘氏菌 *Buttiauxella noackiae*			气单胞菌 *Aeromonas dhakensis*			乡间布丘氏菌 *Buttiauxella gaviniae*			副溶血弧菌 *Vibrio Parahaemolyticus*		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
YJCJ1	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
YJCJ5	-	++	+	-	++	+	+	+	-	-	-	-
YJCJ3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++
YJCG5	-	-	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-

注：+表示抑菌直径<10.0 mm；++表示 10.0mm<抑菌直径<20.0 mm；+++表示抑菌直径>20.0 mm；- 表示无抑菌作用。 A 表示甲醇；B 表示石油醚；C 表示乙酸乙酯。

Notes: + indicated diameter of inhibition zone less than 10.0 mm (<10.0 mm); ++ indicated diameter of inhibition zone less than 20 mm and more than 10 mm; +++ indicated diameter of inhibition zone more than 20 mm; - indicate no inhibiting activity was detected. A, methanol; B, Petroleum ether; C, ethyl acetate.

3　讨论与结论

本研究从盐角草不同组织分离到形态不同的内生真菌 14 株，其中根部分离到的内生真菌最多，有 6 株，占 42.86%；分离到的优势种类为 *Curvularia lunata*，在根中占优势，叶中的优势种属为 *Neocamarosporium chichastianum*；其他分离到的种属包括 *Guignardia mangiferae* 和 *Aspergillus candidus*。这个结果与张志东报道的有所不同，其中 *Alternaria*、*Cladosporium*、*Podospora* 3 个属为盐角草内生真菌优势菌群（张志东等，2020）；本研究和赵育卉报道的结果也不一样，他们分离到的真菌比较少，仅有点青霉属和镰刀菌属（赵育卉等，2013）。我们的研究结果与这些结果的差异可能来自分离的环境的差异，张志东等（2020）研究的盐角草来自新疆天山的盐渍土，而赵育卉研究的盐角草来自江苏的盐碱地，本研究的盐角草来自北部湾的盐田，在空间上的距离比较远，其生长环境的差异也会造成其所共生的内生真菌类群不同。另外，总体而言从盐角草中分离的内生真菌相对于其他植物而言偏少，这可能是因为盐角草生长在高盐的极端环境，对内生真菌有选择作用。

本研究分离的 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 在进化关系上与 *Neocamarosporium*

salicornicola 距离最近，*Neocamarosporium salicornicola* 模式种（MycoBank MB821971）2015年分离于泰国的盐角草死亡的茎，这与本研究的真菌来源植物基本相同，说明 *Neocamarosporium salicornicola* 类真菌可能是盐角草专性寄生的真菌(Wanasinghe et al., 2017)。文章报道 *Neocamarosporium salicornicola* 真菌 16 ℃在 PDA 培养基上培养 3 周菌落为 3 cm；菌落正面为灰色，背面周围为微黄色，中间为黑色；本研究分离的真菌为菌丝为白色绒毛状，菌落中间为淡红色，存在一定差异，因此 YJCY2、YJCY3 和 YJCG2 可能为 *Neocamarosporium* 的新种，但有待进一步实验证实。

本研究分离到的菌株 YJCJ3 提取物表现了比较好的抑制副溶血弧菌的潜力，而 YJCJ5 表现了较为广谱的抑制几种水产腐败细菌 *Buttiauxella noackiae*、*Aeromonas dhakensis*、*Buttiauxella gaviniae* 的活性。YJCJ3 和 YJCJ5 均为 *Curvularia* 属真菌，研究表明 *Curvularia* 属是产生活性次生代谢产物的“明星真菌”之一，可以从内生菌、病原菌、海葵和鱼等分离，产生抗疟疾、抗炎、抗氧化、抗菌、抗真菌和抗癌等活性物质(Khiralla et al., 2019)。副溶血弧菌和其他几种水产腐败细菌 *Buttiauxella gaviniae*(王发祥等，2012)、*Aeromonas dhakensis* (Carriero et al., 2016)、*Buttiauxella noackiae* 是水产品储运中较易出现的对人健康有较大威胁的细菌(由高铭等，2018)，新型保鲜剂的研发也非常紧迫(陈文慧等，2017)。本研究的结果提供了几个非常有应用前景的内生真菌，以后的研究中可以考虑从这些内生真菌中提取抗菌活性物质用于抑制水产品的腐败。

参考文献：

CHEN WH, XU L, LIANG ZG, et al., 2017. Application of biopreservative on aquatic products[J]. The Food Industry, 38(5): 52-57. [陈文慧，徐莉，梁振纲，等，2017. 生物保鲜剂在水产品保鲜中的应用研究[J]. 食品工业，38(5): 52-57.]

CARRIERO MM, MENDES AA, MORO SOUSA RL, et al., 2016. Characterization of a new strain of *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil[J]. J Fish Dis, 39(11): 1285-1295.

GONG B, YAO XH, ZHANG YQ, et al., 2015. A cultured endophyte community is associated with the plant *Clerodendrum inerme* and antifungal activity[J]. Genet Mol Res, 14 (2): 6084-6093.

GONG B, LIU G, LIAO R, et al., 2017. Endophytic fungus *Purpureocillium* sp. A5 protect mangrove plant *Kandelia candel* under copper stress[J]. Brazilian J Microbiol, 48(3):

530-536.

GONG B, CHEN YP, XIONG Z, et al., 2014. Isolation, characterization,and anti-MDR bacteria activity of endophytic fungi isolated from Mangrove plants *Aegiceras corniculatum*[J]. Trop J Pharm Res, 13 (4): 593-599.

GONG B, FANG HY, LIU XX, et al., 2017. Comparison of fungi in healthy and unhealthy leaves from three kinds of mangrove plants[J]. Guihaia, 37(3): 294-302. [龚斌，方怀义，刘小雪，等, 2017. 三种红树林植物健康与非健康叶片中真菌的比较[J]. 广西植物, 37(3): 294-302.]

GONG B, CHEN S, LAN W, et al., 2018. Antibacterial and antitumor potential of *Actinomycetes* isolated from mangrove soil in the Maowei Sea of the southern coast of China[J]. Iranian J Pharm Res, 17(4): 1339-1346.

GUAN FQ, 2016. Studies on the anti-proliferative effects and molecular mechanism of Bigelovii A [D].Nanjing： Nanjing Agriclture University. [管福琴, 2016. 变形三萜海蓬子皂苷甲抗乳腺癌作用及其机制研究[D]. 南京：南京农业大学.]

JIA M, CHEN L, XIN HL, et al., 2016. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review[J]. Front Microbiol, 7: 906-920.

JIANG D, HUANG LF, LIN Y Q, et al., 2012. Inhibitory effect of *Salicornia europaea* on the marine alga *Skeletonema costatum*[J]. Sci Sin Vitae, 55(6): 551-558. [姜丹，黄凌风，林永青，等, 2012. 盐生植物盐角草对中肋骨条藻的生长抑制[J].中国科学生命科学, 42(5): 419-426.]

KHIRALLA A, SPINA R, SALIBA S, et al., 2019. Diversity of natural products of the genera *Curvularia* and *Bipolaris*[J]. Fungal Biol Rev, 33(2): 101-122.

LI JW, YANG Z, LIU XM, et al., 2012. Quantitative analysis of phenolic acids and chlorogenic acid of *Salicornia bigelovii* Torr[J]. Nat Prod Res Devel, 24(4): 494-497. [李建伟，杨志，刘晓满，等, 2012. 海芦笋及其生物盐中多酚酸和绿原酸的定量分析[J]. 天然产物研究与开发, 24(4): 494-497.]

RAN HM, KONG WJ, JIANG HF, et al., 2016. Isolation and identification of endophytic bacteria from *Salicornia bigelovii* Torr. and their antimicrobial activities[J]. Food Ferment Indust, 43(3): 79-86. [冉火苗，孔望君，蒋会芳，等, 2016. 盐生海芦笋抗菌内生细菌的筛选与鉴

定[J]. 食品与发酵工业, 43(3): 79-86.]

State Administration of traditional Chinese medicine, 1999. Chinese materia medica [M]. Shanghai Science and Technology Press. [国家中药管理局，1999.中华本草[M].上海科学技术出版社]

SHI XL, HAN HP, SHI WL, et al., 2006. NaCl and TDZ are two key factors for the improvement of In vitro regeneration rate of *Salicornia europaea* L[J]. J Integr Plant Biol, 48(10): 1185-1189.

SCHULZ B, BOYLE C, DRAEGER S, et al., 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites[J]. Mycol Res, 106(9): 996-1004.

XU W, GONG HB, SHAO R, et al., 2011. Study on antibacterial properties of the total alkaloids extraction from *Salicornia Bigelovii* torr[J]. Sci Technol Food Indust, 32(7): 170-171,232. [许伟，郭海滨，邵荣，等, 2011. 海蓬子总生物碱提取物的抑菌性能研究[J]. 食品工业科技, 32(7): 170-172.]

WU H, JEFFERSON TA, PENG C, et al., 2017. Distribution and habitat characteristics of the Indo-Pacific humpback dolphin (*Sousa chinensis*) in the northern Beibu Gulf, China[J]. Aquat Mamm, 43(2): 219-228.

WANASINGHE DN, HYDE KD, JEEWON R, et al., 2017. Phylogenetic revision of *Camarosporium* (*Pleosporineae*, *Dothideomycetes*) and allied genera[J]. Stud Mycol, 87: 207-256.

WANG FX, WANG MS, LIU YL, et al., 2012. The dominant spoilage bacteria and their growth and decline law in grass carp during low temperature preservation[J]. Food Ferment Indust, 38(2): 66-68.[王发祥， 王满生， 刘永乐， 等，2012． 低温贮藏下草鱼肉优势腐败菌鉴定及其消长规律[J]． 食品与发酵工业， 38(2)：66-68.]

YOU GM, CHEN XR, ZHAO QC, et al., 2018. Effect of preservative solution on spoilage bacteria in chilled peled (*Coregonus peled*)[J]. Fisheries Sci, 37(5): 584-590.［由高铭， 陈欣然， 赵前程， 等， 2018． 抑菌剂浸泡液对冷藏高白鲑鱼肉腐败菌的抑制效果[J]． 水产科学， 37(5)：584-590.］

ZHAO HM, 2004. Eco-physiological characteristics of halophyte salt-worts and their potential utilization in environmental mediation and germplasm improvement[J]. Bull Sci Technol, 20(2) : 167-171. [赵惠明, 2004. 盐生植物盐角草的资源特点及开发利用[J]. 科技通报，

20(2) : 167-171.]

ZHANG DY, WANG QZ, YIN M, et al., 2014. Antitumor effects and preliminary mechanism of crude extracts from *Salicornia bigelovii* Torr[J]. Food Sci Technol, 39(4): 227-231. [张丹玉, 王奇志, 印敏, 等, 2014. 北美海蓬子提取物体外抗肿瘤作用及其初步的机制研究[J]. 食品科技, 39(4): 214-218.]

ZHAO YH, WANG XM, WANG H, et al., 2013. Isolation and identification of two endophytic fungus strains from *Salicornia bigelovii*[J]. Food Sci, 34(15): 148-153. [赵育卉, 王晓敏, 王惠, 等, 2013. 两株盐生海芦笋内生真菌的分离与鉴定[J]. 食品科学, 34(15): 148-153.]

ZHAO S, ZHOU N, ZHAO ZY, et al., 2016. Endophytic bacterial diversity and dynamics in root of *Salicornia europaea* estimated via high throughput sequencing[J]. Acta Microbiol Sin, 56(6): 1000-1008. [赵帅, 周娜, 赵振勇, 等, 2016. 基于高通量测序分析盐角草根部内生细菌多样性及动态规律[J]. 微生物学报, 56(6): 1000-1008.]

ZHANG ZD, ZHU J, TANG QY, et al., 2020. Effects of different amplification primers on diversity analysis of endophytic fungi in *Salicornia europaea* by the high-throughput sequencing[J]. Microbiol Chin, 47(2): 411-419. [张志东, 朱静, 唐琦勇, 等, 2020.不同扩增引物对高通量测序分析盐角草内生真菌多样性的影响[J]. 微生物学通报, 47(2): 411-419.]